

Diferenciación y semi-cuantificación de *A. westerdijkiae* y *A. ochraceus* con PCR-DGGE

DURAND, Noël^{*}, MEILE, Jean-Christophe^{*}, FONTANA, Angélique^{*}, GALINDO-SCHORR, Sabine^{*}, MONTET, Didier^{*}.

^{*} UMR Qualisud (CIRAD, Université Montpellier II), 34095 Montpellier Cedex 5, France.

La ocratoxina A (OTA) es un metabolito secundario producido por diversos hongos filamentosos, se sabe que tiene propiedades nefrotóxico, teratogénico, inmunotóxicos y cancerígenos. En los trópicos, la OTA se produce principalmente en los granos de café por especies de *Aspergillus*: *A. carbonarius*, *A. Niger* sección *Nigri* y *A. ochraceus* y *A. westerdijkiae*, la sección *Circumdati*. *A. ochraceus* y *A. westerdijkiae* parte relacionada con la presencia de ocratoxina A (OTA) en especies de café. Estas dos cepas, son fenotípicamente y genómicamente muy cerca y es un productor fuerte de la OTA (*A. westerdijkiae*) mientras que el otro es ligeramente productor. Desde el año 2004, sobre la base de datos moleculares y morfológicos Frisvad et al propone *A. westerdijkiae* como un nuevo taxón de *A. ochraceus* especies.

Estas dos especies se han diferenciado sólo recientemente, pares de cebadores de ADN extraídas hasta ahora no son específicos de especie, es decir, se pueden amplificar por PCR una región genómica del mismo tamaño por tanto, o bien son demasiado específicos, y en este caso amplificar selectivamente el ADN de una sola especie.

En nuestro estudio hemos utilizado las propiedades de la PCR-DGGE (Polymerase Chain Reaction - Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) para *A. westerdijkiae* independiente y *A. ochraceus*. DGGE se utiliza para separar fragmentos de ADN del mismo tamaño, pero con diferentes secuencias.

La metodología propuesta se ha desarrollado un método innovador y fácil de distinguir dos cepas ocratoxinógenos contaminantes del café, *Aspergillus ochraceus* y *Aspergillus westerdijkiae*. La principal ventaja del método es utilizar sólo un conjunto de cebadores para diferenciar *A. westerdijkiae* de *A. ochraceus* y por lo tanto más rápido para el diagnóstico de la capacidad de las cepas toxigénicas analizados.

La obtención de una buena diferenciación de las especies junto con el análisis de imágenes de geles de DGGE hechas con diferentes cantidades iniciales de ADN también ha establecido un método de "cuantificación" de las dos cepas.